

## 精巢摘出家兎の成長軟骨板の軟骨細胞動態

著者	入江 太一
号	2179
発行年	2005
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22761">http://hdl.handle.net/10097/22761</a>

氏 名（本籍）いりえたいち  
入 江 太 一

学 位 の 種 類博士（医学）

学 位 記 番 号医博第2179号

学位授与年月日平成17年3月25日

学位授与の条件学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻東北大学大学院医学系研究科  
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目Cell Kinetics of Growth Plate Chondrocytes  
in Castrated Male Rabbits  
（精巢摘出家兎の成長軟骨板の軟骨細胞動態）

（主 査）

論 文 審 査 委 員教授国分正一教授百々幸雄

教

授

山

田

敦

## 論文内容要旨

長管骨の成長軟骨板は、静止、増殖、肥大細胞層に分けられる。成長軟骨の静止軟骨細胞は、刺激により増殖軟骨細胞に分化し、さらに肥大軟骨細胞に成熟する。最終的な軟骨細胞が Apoptosis を生じると考えられる。その過程で、様々なホルモンやサイトカインが関与している。男性ホルモンは、二次性徴と思春期の growth spurt を引き起こし、筋骨格系の発達に関与する。男性ホルモンの機能を調べる方法の 1 つに精巣摘出があり、数多くの報告がされた。しかし、精巣摘出による、長管骨の成長や成長板の軟骨細胞に対する影響は不明な点が多い。そこで、精巣摘出による、成長軟骨板の軟骨細胞動態の影響を調べた。幼若なウサギの精巣を摘出し、成長に伴う成長軟骨板の変化を組織学的に観察した。さらに、免疫染色により、軟骨細胞の増殖またはアポトーシスなど細胞動態を観察した。

32 匹の雄の日本白色家兔を、4 匹ずつ 8 group に分けた。うち 4 group は生後 8 週齢で精巣を摘出し、10, 15, 20, 25 週齢で屠殺した。4 group は未摘出のまま、10, 15, 20, 25 週齢で屠殺し、コントロールとした。大腿骨を摘出し、骨頭の成長軟骨板を観察した。顕微鏡下に成長軟骨板の高さを計測した。成長軟骨板の各層の軟骨細胞数を計測した。アポトーシス細胞を明らかにするため Caspase-3、細胞増殖を明らかにするため PCNA (proliferating cell nuclear antigen) の免疫染色を行った。Caspase-3 と PCNA の細胞陽性率を、成長軟骨板全層及び、休止、増殖、肥大の各細胞層について算出し、摘出群と正常群を各週齢で比較した。

成長軟骨板の高さは、10, 15, 20, 25 週齢の正常ウサギが  $432 \pm 32$ ,  $357 \pm 20$ ,  $324 \pm 42$ ,  $206 \pm 149 \mu\text{m}$ 、精巣摘出ウサギが  $423 \pm 70$ ,  $297 \pm 9$ ,  $217 \pm 69$ ,  $70 \pm 68 \mu\text{m}$  であった。精巣摘出により成長板の高さは低下していた。各週齢の軟骨細胞数は、精巣摘出群が正常群より減少していた。Caspase-3 陽性軟骨細胞は、主に肥大細胞層にみられた。Caspase-3 陽性率は、10, 15, 20, 25 週齢の正常群が  $8.7 \pm 1.6$ ,  $9.1 \pm 2.5$ ,  $11.8 \pm 1.8$ ,  $15.0 \pm 5.4\%$ 、精巣摘出群は  $8.1 \pm 0.7$ ,  $10.2 \pm 1.8$ ,  $13.3 \pm 3.6$ ,  $19.5 \pm 3.3\%$  であった。陽性率は、全層および肥大細胞層で経時的に増加し、精巣摘出群が正常群より高い傾向がみられた。一方、静止、増殖層の陽性率は低く、2 群間に差はみられなかった。PCNA 陽性軟骨細胞は、主に増殖、上位肥大細胞層にみられた。PCNA 陽性率は、10, 15, 20, 25 週齢の正常群が  $14.5 \pm 2.5$ ,  $12.5 \pm 2.9$ ,  $7.8 \pm 1.2$ ,  $5.1 \pm 0.3\%$ 、精巣摘出群は  $10.8 \pm 1.0$ ,  $5.8 \pm 1.7$ ,  $4.5 \pm 0.4$ ,  $4.0 \pm 1.2\%$  であった。陽性率は、両群で経時的に低下し、全層および各層で精巣摘出群が正常群より低下していた。

我々の研究は、精巣摘出によって、ウサギの成長軟骨板の軟骨細胞は増殖能が低下し、アポトーシスは増加していることを示した。

## 審 査 結 果 の 要 旨

長管骨は、成長軟骨板で営まれる。ホルモンやサイトカインの関与のもとに休止軟骨細胞の一部が増殖して軟骨板の厚さを増し、その後肥大軟骨細胞化し最終的にアポトーシスに陥る。そのアポトーシスに陥った肥大軟骨細胞を骨幹端側から破骨細胞が侵食して削り取り、次いで骨芽細胞が骨を添加して骨を延長する。

男性ホルモンは二次性徴と思春期の growth spurt などの筋骨格系の発達に関与するが、成長軟骨板の軟骨細胞の増殖、肥大軟骨細胞化の過程におけるその作用は不詳である。そこで、本研究では、精巣摘出の軟骨板軟骨細胞の動態に対する影響を調べるべく、幼若なウサギ（生後8週齢）の精巣を摘出し、① 成長に伴う大腿骨頭成長軟骨板の組織学的変化を観察し、さらに、② 免疫染色により、軟骨細胞の増殖とアポトーシスを観察した。

① 組織学的に成長軟骨板の高さと、成長軟骨板の各層の軟骨細胞数を計測した。結果は、成長板の高さが低下し、各週齢の軟骨細胞数は、精巣摘出群が正常群より減少していた。

② アポトーシス細胞を明らかにするため Caspase-3、細胞増殖を明らかにするため PCNA (proliferating cell nuclear antigen) の免疫染色を行い、それぞれ陽性率を、成長軟骨板全層及び、休止、増殖、肥大の各細胞層について算出し、正常群と各週齢で比較した。結果は、Caspase-3 陽性軟骨細胞は、主に肥大細胞層にみられ、その陽性率は、全層および肥大細胞層で経時的に増加し、精巣摘出群が正常群より高い傾向がみられた。一方、休止、増殖層の陽性率は低く、2 群間に差がなかった。PCNA 陽性軟骨細胞は、主に増殖、上位肥大細胞層にみられ、その陽性率は、両群で経時的に低下し、全層および各層で精巣摘出群が正常群より低下していた。

本研究は、精巣摘出によって、ウサギの成長軟骨板の軟骨細胞は増殖能が低下し、アポトーシスが増加していることを明らかにした。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。